Aus der Medizinischen Universitätsklinik und Poliklinik
Würzburg
Direktor: Professor Dr. med. K. Kochsiek

DIE DIAMINOOXIDASE (HISTAMINASE) BEI RENALEN ERKRANKUNGEN UND DEREN HEMMBARKEIT DURCH URÄMIETOXINE

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n
verfaßt und der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von
Hildgund Lindner
aus Mittenwalde

Würzburg, den 28. 1. 1981

Aus der Medizinischen Universitätsklinik und Poliklinik
Würzburg
Direktor: Professor Dr. med. K. Kochsiek

DIE DIAMINOOXIDASE (HISTAMINASE) BEI RENALEN ERKRANKUNGEN UND DEREN HEMMBARKEIT DURCH URÄMIETOXINE

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n
verfaßt und der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von
Hildgund Lindner
aus Mittenwalde

Würzburg, den 28. 1. 1981

Referent: Priv. Doz. Dr. med. V. Gänz
Korreferent: Professor Dr. med. K. Kochsiek
Dekan: Professor Dr. med. K.-H. Wolf

Tag der mündlichen Prüfung: 10. Juni 1981

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Universität Würzburg

Gliederung

		Seite
1.	Einleitung und Fragestellung	1
1.1.	Vorkommen der Diaminooxidase	1
1.2.	Der chemische Aufbau und die Bedeutung der Diaminooxidase (DAO)	2
1.3.	Aufgabe und Organverteilung der DAO	2
1.4.	Die Aktivierbarkeit der DAO durch Heparin	3
1.5.	Fragestellung	4
1.6.	Verzeichnis der Abkürzungen	5
2.	Material	5
2.1.	Chemikalien, Lösungen, Laborwerte und Serumwerte	5
2.2.	Versuchstiere	6
2.3.	Laborgeräte	6
3.	Methodik	7
3.1.	Radiochemische Bestimmung der Diaminooxidase	7
3.2.	Bestimmung von CRP, Harnstoff und Creatinin	10
3.3.	Hemmung der DAO durch Methylguanidin und die Bestimmung der Inhibitorenkonstanten	11
3.4.	Die Verteilung von ^{3}H-Methylguanidin	11
3.5.	Statistische Auswertung	12
4.	Ergebnisse	12
4.1.	Verringerung der Postheparin-Diaminooxidase	12
4.2.	Hemmung der DAO in vitro durch Urämietoxine	15
4.3.	^{3}H-Methylguanidinkonzentration in Organen	16
4.4.	Vergleich der PHD mit dem C-Reaktiven Protein im Serum	16
5.	Diskussion	17
6.	Zusammenfassung	22
7.	Literaturverzeichnis	24

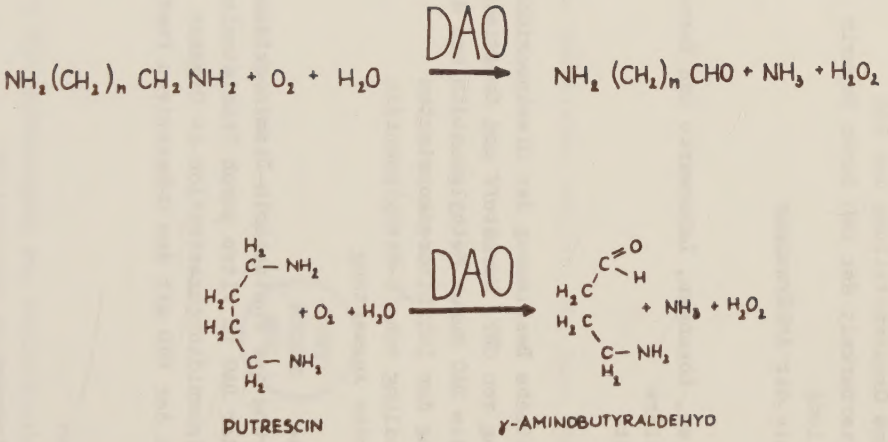

Abbildung 1:
Reaktionsgleichung der Diaminooxidase (Histaminase)
Oben: Summenformel

1. Einleitung und Fragestellung

1.1. Vorkommen der Diaminooxidase

Aufgrund der Fähigkeit von Lungengewebe, Histamin zu inaktivieren, beschrieb BEST (4) ein Enzym, das er Histaminase nannte. ZELLER wies in der Schweineniere das Enzym nach und konnte feststellen, daß es nicht nur Histamin, sondern auch aliphatische Diamine wie Putrescin, Cadaverin und Agmantin oxidativ desaminiert (50). Er nannte das Enzym deshalb Diaminooxidase (E.C.N.1.4.3.6), hierbei kann das Hormon Histamin als ringförmiges Diamin betrachtet werden. Andererseits findet man die Auffassung, daß es verschiedene Aminooxidasen zum Abbau des Histamins gäbe (25). Andere Autoren vertreten, daß diese Verschiedenartigkeit der Wirkung ein und demselben Enzym angehört (48). Einigkeit besteht darin, daß die Diaminooxidasen verschiedener Herkunft nicht identisch sind, sondern eine Gruppe von homologen Enzymen mit teilweise sehr unterschiedlicher Substratspezifität darstellen (25, 48), und daß man Diaminooxidase und Histaminase als Synonyma benutzt.

Finden kann man die Diaminooxidase in der Pflanzen- und Tierwelt. Nachgewiesen wurde sie in Bakterien und Pilzen (47), sowie in höheren Pflanzen, besonders den Leguminosen. Beim Menschen und Säugetier liegen in verschiedenen Organen unterschiedlich hohe Konzentrationen vor (49). Hohe Aktivitäten werden in den stark durchbluteten Organen wie der Leber (44, 34, 30), der Darmschleimhaut (28), der Niere (32) und der Lunge (46) gefunden. Die Darmlymphe, die Plazenta verschiedener Gattungen, hauptsächlich die des Menschen, weisen hohe Konzentrationen der Diaminooxidase auf (9, 49, 12), wobei auch festgestellt wurde, daß das Plasma von Schwangeren Diaminooxidase enthält (6).

1.2. Der chemische Aufbau und die Bedeutung der Diaminooxidase (DAO)

Die DAO ist ein löslich:s Enzym, welches vorwiegend im Zytoplasma vorliegt (24). Die Niere enthält 10 % der gesamten DAO-Konzentration in den Mitochondrien (51), die Kaninchenleber besitzt ausschließlich in den Mitochondrien DAO (8). Das Enzym wurde durch Homogenisierung aus diesen Organen gut löslich gemacht, mit einer hohen Stabilität relativ leicht gereinigt und man konnte sogar in der Schweineniere die DAO in kristalliner Form antreffen (27). Die chemische Aufgabe der DAO beruht in dem Abbau der Amine in den entsprechenden Aldehyd unter Verbrauch von molekularem Sauerstoff, wobei die Aminogruppe in Form von Ammoniak abgespalten wird. Der verwendete Sauerstoff wird zu Wasserstoffperoxid reduziert (Abb. 1).

1.3. Aufgabe und Organverteilung der DAO

Die Aufgabe der DAO ist das Abbauen erstens des exogenen Histamins, das durch die Darmschleimhaut oder durch die Plazenta in den Organismus gelangen kann, und zweitens des endogenen Histamins, das durch Granulationen der Mastzellen freigesetzt wird. Diese Aufgabe hat besonders die Niere; sie eliminiert das im Blut nicht mehr benötigte und somit für den Körper schädlich gewordene oder das in den Blutkreislauf geratene exogene Histamin. In Organen, deren Funktion unmittelbar mit dem Umsatz von Histamin verknüpft ist, zum Beispiel in der Magenschleimhaut (29, 28) fehlt die DAO. Hier katabolisiert die Histamin-N-Methyltransferase das Histamin, ein Enzym, das darauf spezialisiert zu sein scheint, die Histaminkonzentration am Wirkort zu steuern. Anders ausgedrückt besteht die Aufgabe der DAO offenbar in der Inaktivierung von nicht oder nicht mehr benötigtem, möglicherweise für den Orga-

nismus gefährlichem Histamin, während die N-Methyltransferase die funktionell benötigte Histaminkonzentration am Wirkort begrenzt.

1.4. Die Aktivierbarkeit der DAO durch Heparin

1966 konnte von HANSSON und Mitarbeitern zum ersten Mal bei Dialyse-Patienten eine durch Heparin bedingte Ausschüttung von DAO festgestellt werden, wobei sich eine "Leber-DAO" und eine "Dünndarm-DAO" fanden (20). Wird ein gesunder Mensch mit 200 Einheiten Heparin pro kg Körpergewicht intravenös belastet, so ist schon nach 20 sec ein Anstieg der DAO im Plasma festzustellen. Bei einer Verlaufskontrolle über drei Stunden findet sich eine zweigipfelige Kurve (20), die bis ungefähr 90 min einen steilen Anstieg aufweist, der 2-3 Zehnerpotenzen des Basalwertes der DAO im Plasma beträgt. Unterbindet man dagegen den Lymphabfluß des Ductus Thoracicus am Angulus venosus, so fällt die Kurve linear ab. Das bedeutet, daß der Einstrom der Dünndarm-DAO nicht mehr gewährleistet ist, diese also nicht mehr in die Peripherie gelangt und nicht mehr gemessen werden kann (20, Abb. 2). Aufgrund dieses Ergebnisses einer Arbeit von HANSSON et al. entspricht der zweite Gipfel der Kurve der Dünndarm-DAO und der erste hauptsächlich der Leber-DAO (20). Nach Untersuchungen von KOBAYASHI et al. (30) steht bei Meerschweinchen dem dosisabhängigen Anstieg der Enzymaktivität im Blutplasma nach Heparingabe eine entsprechende Verminderung des Enzymgehaltes in der Leber gegenüber; damit ist die DAO-Freisetzung nach Heparin praktisch eine "indirekte Organbiopsie" (39).

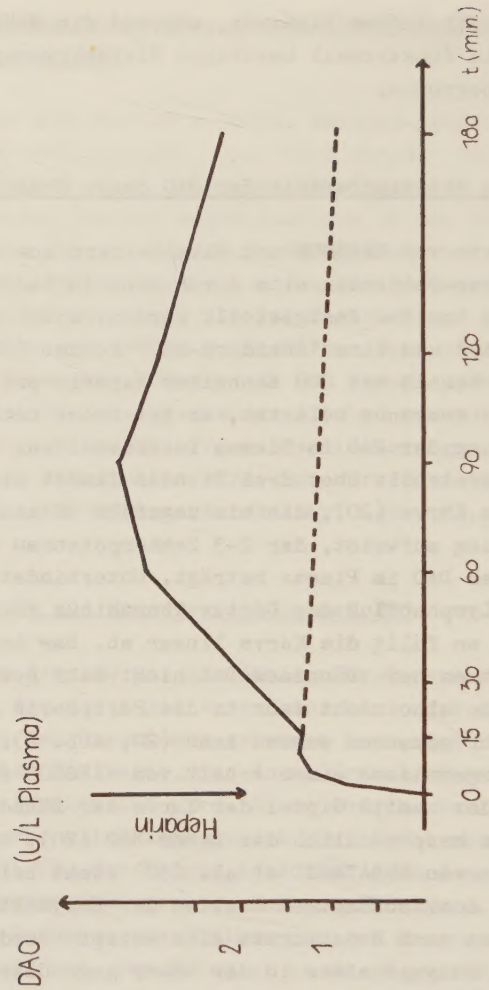

Abbildung 2:
Postheparin-Diaminooxidase ohne (ausgezogene Linie) und mit Hemmung des Lymphabflusses am Angulus venosus (gestrichelte Linie)

1.5. Fragestellung

Verschiedene biochemische Faktoren ließen die Untersuchung der DAO unter klinischen Bedingungen besonders interessant erscheinen:

1. Freisetzbarkeit durch Heparin
2. Anstieg des Enzyms in der Schwangerschaft
3. Hemmbarkeit des Enzyms durch Aminoguanidin (43) bei einer Inhibitorenkonstanten von 5×10^{-8} M.

Enzymhemmung in derart empfindlichem Maße bzw. solcher Größenordnung ist außerordentlich auffallend und selten. Aufgrund der chemischen Verwandtschaft des Aminoguanidin mit den Urämietoxinen wie Harnstoff, Creatinin, aliphatischen Aminen, Methylguanidin, Guanidinbernsteinsäure, Guanidinpropionsäure, Wasserstoffionen, Phosphaten, Sulfaten, Indolen, Phenolen, parathyreoidalem Hormon und Polypeptid-Mittelmolekülen (13) sollte geprüft werden, ob hier eventuell das gleiche Phänomen zu beobachten ist und wenn ja, in welcher Größenordnung diesem Befund pathophysiologische Bedeutung zukommt.

Aus früheren Untersuchungen war bekannt, daß die Freisetzbarkeit der DAO durch Heparin bei bestimmten entzündlichen Erkrankungen verringert war. Es war deshalb von Interesse, das Enzymverhalten bei den geläufigsten renalen Entzündungserkrankungen zu untersuchen. Dazu wurde ein Patientenkollektiv von 45 Patienten mit Heparin i.v. belastet.

1.6. Verzeichnis der Abkürzungen

CPM	Counts per minute
DAO	Diaminooxidase (Histaminase)
PHD	Post-Heparin-Diaminooxidase
U/L	Unit/Liter
CRP	C-Reaktives Protein

2. Material

2.1. Chemikalien, Lösungen, Laborwerte und Serumwerte

2.1.1. Chemikalien

^{14}C-Putrescin-Dihydrochlorid s.A. 5 - 15 mC/mM
^{14}C-Tryptamin-Bisuccinat s.A. 5 - 15 mC/mM
Diese Substanzen wurden von der Fa. NEN-Chemicals, Dreieichenhain bei Frankfurt/M. bezogen.
POPOP Scintillation Grade Fa. Packard
PPO Scintillation Grade Fa. Packard
Liquemin^{R} (Heparin) 5000 U/ml, Fa. Hoffmann-La Roche AG, Grenzach/Baden
Guanidinderivate, Tryptamin; diese Substanzen wurden von der Fa. Serva, Heidelberg, bezogen.
Protamin 1000 (wässrige Lösung), Fa. Hoffmann-La Roche AG, Grenzach/Baden

2.1.2. Puffer

Kaliumphosphatpuffer 1 M ph 7,4 hergestellt aus
Di-Kaliumhydrogenphosphat und
Kalium-di-hydrogenphosphat

2.1.3. Serumwerte

CRP-Standard-Serum für immunologische CRP-Bestimmungen: Behringwerke, Marburg/Lahn

2.2. Versuchstiere

Weibliche Albinoratten vom Stamm FW 49 (180 - 200 g Körpergewicht) der Fa. Karl Thomae GmbH, Biberach/Riß

2.3. Laborgeräte

pH-Meter
Inkubation erfolgte im Wasserbad mit Thermostat und geeichtem Thermometer
Zentrifuge der Fa. Sorvall Superspeed RC2-B
Packard Liquid scintillation Spectrometer Mod. 3380 mit externem Standard jeweils 2x5 min.

3. Methodik

3.1. Radiochemische Bestimmung der Diaminooxidase

Alle Patienten, die an einer der verschiedenartigen Nierenerkrankungen litten, erhielten 200 IE Heparin/kg Körpergewicht intravenös appliziert. Die Patienten waren nüchtern und lagen. Gleiches trifft für die Kontrollpersonen zu. Nach Abnahme von ca. 2,0 ml Vollblut zur Bestimmung des Ausgangswertes wurde nach Injektion der entsprechenden Heparin-Menge in den Zeitabständen von 2, 5, 10, 15, 30, 45, 60, 90, 120 und 180 Minuten aus der liegenden Kanüle Blut entnommen. Bei Kontraindikationen gegen eine Heparingabe wurde die Untersuchung nicht durchgeführt. Außerdem lag als Antidot Protaminsulfat stets bereit. Das Serum wurde durch Zentrifugieren getrennt und kühl gelagert. Die DAO-Bestimmung erfolgte nach OKUYAMA und KOBAYASHI (38), modifiziert nach TRYDING (45), wobei ^{14}C-Putrescin als Substrat angeboten wurde. Das entstehende Produkt ist toluollöslich, im Gegensatz zu dem Substrat. Das ausgeschüttelte radioaktive Reaktionsprodukt Δ^1-pyrrolin diente als Enzymaktivitätsmaß, wobei eine Korrelation zwischen Enzymaktivität und Metaboliten besteht.

Gemischt werden 100 Mikroliter Plasma, 200 Mikroliter 1 M Kaliumphosphatpuffer mit einem pH von 7,4 und 50 Mikroliter ^{14}C-Putrescin mit 1,6 Ci/Mol. Nach Auffüllen auf 2 ml wird eine Stunde bei 37° C inkubiert. Bei den Kontrollen wird Puffer anstatt des Enzyms eingesetzt. Dann wird zweimal mit je 10 ml Toluol, dem 3,5 g/L PPO und 0,2 g/L POPOP zugefügt wurde, ausgeschüttelt; nach Ausgefrieren der wässrigen Phase wird der Überstand abgekippt und im Packard bei optimaler ^{14}C-Einstellung zweimal zu je 5 Minuten gezählt. Danach folgt eine Hochrechnung auf CPM/ml bzw. mU/ml.

Zur Eichung wurde die Vorschrift nach KUSCHE* und Mitarb. benutzt. Das Prinzip der Reaktion geht aus der nachfolgenden Reaktionsgleichung hervor:

$$\text{Putrescin} \xrightleftharpoons{\text{DAO}} \gamma\text{-Aminobutyraldehyd} + NH_3 + H_2O_2$$

$$NH_3 + \alpha\text{-Ketoglutarat} + \text{NADH} \xrightleftharpoons{\text{GLDH}} \text{Glutamat} + \text{NAD} + H_2O$$

Der bei der DAO-Reaktion freiwerdende Ammoniak wird durch die Glutamat-Dehydrogenase mit α-Ketoglutarat zu Glutamat umgesetzt. Hierbei wird NADH zu $NAD^+ + H^+$ oxidiert. Die verbrauchte Menge des NADH wird über einen Schreiber registriert und gemessen und in Korrelation zu den CPM-Werten gesetzt.

Lösungen für den NADH-Test sind: Phosphatpuffer (0,2 M, pH von 7,6) Na_2HPO_4 x 2 H_2O und KH_2PO_4 x α-Ketoglutarat (171 mM): 97,5 mg Na_2-α-Ketoglutarat werden in 2 ml Wasser gelöst, 1 n NaOH wird zugegeben, bis ein pH von 7,6 erreicht ist, die Lösung wird auf 3 ml mit Wasser aufgefüllt. 5,7 mM NADH: 12,1 mg NADH werden in 3,0 ml 1 % $NaHCO_3$ aufgenommen. Die Substratlösung (14,5 mg Putrescin) wird in 3,0 ml Phosphatpuffer gelöst. GLDH 10 mg/ml.

---

* Herrn Dr. J. Kusche, Institut für Experimentelle Chirurgie und Pathologische Biochemie der Universität Marburg/Lahn sei an dieser Stelle sehr herzlich für die Überlassung einer Enzymprobe für Kontrollzwecke gedankt.

Inkubationsansatz

	Menge	Endkonzentration im Versuchsansatz
Phosphatpuffer	1,65 - 2,55 ml	ca. 0,2 M
GLDH	0,05 ml	ca. 1,0 U/ml
α-Ketoglutarat	0,10 ml	5,7 mM
NADH	0,10 ml	0,19 mM
Enzym	0,10 - 1,00 ml	

mischen und 10 Minuten inkubieren bei einer Temperatur von 37° C

Substrat (nicht markiertes Putrescin)	0,10 ml	1,0 mM

Der Schreiber registriert dann die Abnahme der Extinktion. Die NADH-Messung erfolgte in einem Gerät der Fa. LKB, Bromma, Schweden. Es ist dies ein Ultrolab System 8600. Die Messung erfolgte bei einer Wellenlänge λ = 366 nm und 37° C. Die Reaktion wurde über einen Schreiber bei einer Papiergeschwindigkeit von 60 mm/min verfolgt. 100 % Papierbreite entsprachen einer Extinktion von 0,200.

$$\lambda_{366} = 3{,}3 \text{ cm}^2/\text{Mol}$$

Als Leerwert diente ein Inkubationsansatz, dem kein Putrescin zugegeben worden war. Die hierbei gefundene Ammoniakkonzentration lag bei 1,02 mg/L Serum, also einer Konzentration, die der einer Normalperson entspricht.

3.2. Bestimmung von CRP, Harnstoff und Creatinin

3.2.1. Die Bestimmung des C-Reaktiven Proteins

Das CRP im Serum wurde durch Immundiffusion unter Verwendung einer handelsüblichen Reagenzien-Kombination der Fa. Behringwerke, Marburg/Lahn, entsprechend der Methode von MANCINI und Mitarb. (35) bestimmt.

3.2.2. Die Bestimmung des Harnstoffs

Der Harnstoff wird nach der Diacetylmonoxim-Methode nach MARS et al. bestimmt (36). Der Harnstoff bildet mit Diacetylmonoxim in Gegenwart von Phenol und Fe-III-Cl einen gelben Farbstoff, der quantitativ photometrisch gemessen wird. Er kann auch mit dem UV-Test nach einer enzymatischen Hydrolyse des Harnstoffs mittels Urease bestimmt werden. Der gebildete Ammoniak wird mit 2-Oxoglutarat, $NADH_2$ und Glutamatdehydrogenase umgesetzt. Der Verbrauch von $NADH_2$ wird entweder nach dem Endwert-Verfahren oder nach dem kinetischen fixed-time-Prinzip gemessen.

3.2.3. Die Bestimmung des Creatinins

Creatinin wurde nach der Methode von CHASSAN et al. (7) und RAPOPORT (22) bestimmt. Diese stellt eine Automatisierung der Jaffa-Reaktion (23) dar. Nach SEELIG (40) scheint es sich um einen Additionskomplex aus einem Molekül Creatinin und einem Molekül Pikrinsäure zu handeln. Die Probe wird mit Kochsalzlösung verdünnt und gegen Wasser dialysiert. Der Akzeptorstrom wird mit Natronlauge und Pikrinsäure versetzt und die Extinktion bei 505 nm gemessen.

3.3. Hemmung der DAO durch Methylguanidin und die Bestimmung der Inhibitorenkonstanten

Bei den Versuchen diente die Postheparin-DAO als Enzymquelle. Die Bestimmung der Inhibitorenkonstanten K_i und die Bestimmung des Hemmtypes der DAO durch Methylguanidin wurden graphisch nach der Methode von DIXON (10) durchgeführt. Hierbei wird die reziproke Enzymaktivität ($\frac{1}{v}$) bei variierten Substratkonzentrationen (S, S/4, S/8) gegen verschiedene Konzentrationen der Inhibitorsubstanz aufgetragen. Aus dieser kann dann der Hemmtyp abgelesen werden (s. Abb. 3).

3.4. Die Verteilung von ^{3}H-Methylguanidin

Nicht ausgezeichnetes Methylguanidin (Fa. Schuchardt, München) wird mit einer WILZBACH-Titrierung nach BUCHLER (Fa. Amersham, England) versetzt. Das nicht stabile Tritiumradikal wird durch eine zehnfache Vakuumdestillation bei 60° C zuvor entfernt. Der zweite Schritt ist eine Schichtchromatographie auf Silikat-Gel F 254 der Fa. Merck, Darmstadt. Die Substanz wurde durch einen Röntgenfilm registriert und durch 0,01 N HCl sichtbar gemacht.

Beim Tierversuch wurden 10µmol/kg Körpergewicht Tritiumradioaktiviertes Methylguanidin (9,64 Ci/mikromol) weiblichen Albino-Ratten mit einem Körpergewicht von 180 - 200 g intravenös appliziert. Das Blut wurde aus dem postorbitalen Venenplexus unter Aethernarkose entnommen, und zwar 2, 5, 15, 30 und 60 Minuten nach der Injektion. Direkt nach der letzten Blutentnahme wurden die Tiere geopfert und die zu untersuchenden Gewebe herausgenommen. Etwa 100 mg jedes Organs wurden in 1 ml Soluene 350 (Fa. Packard, Zürich) bei 50° C 4 Stunden lang inkubiert, bis alles zersetzt war. Danach wurde jede Probe mit 15 ml Toluol gemischt und auf 24 h bei 4° C inkubiert. Diese Proben wur-

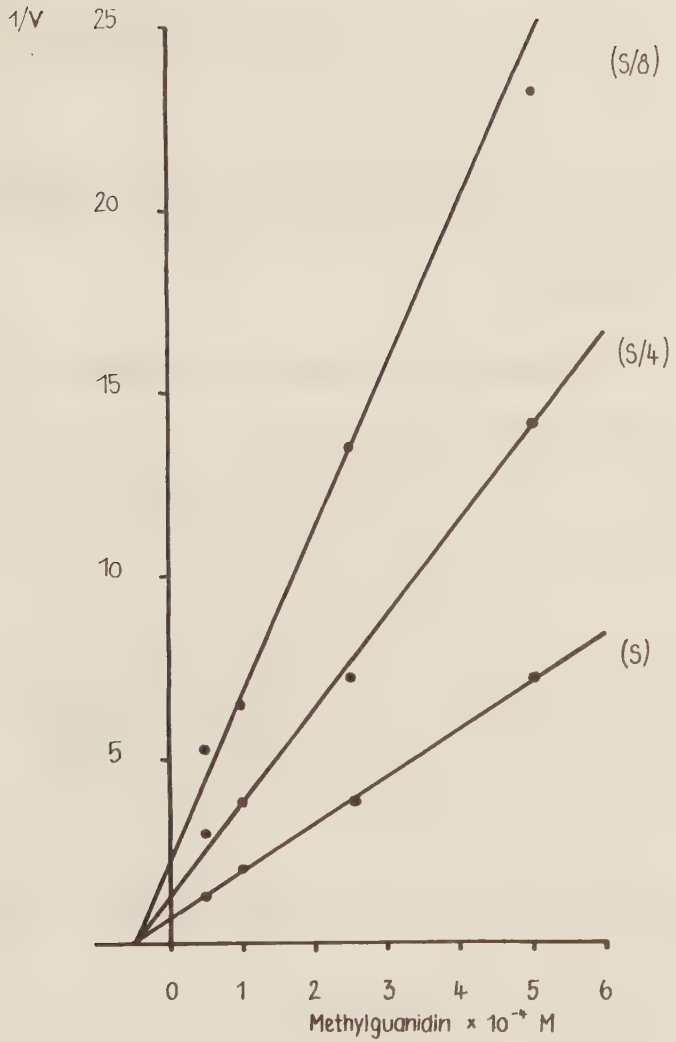

Abbildung 3:

K_i-Wert und Hemmtyp der Diaminooxidase durch Methylguanidin

den dann ebenso im Packard bei optimaler ^{3}H-Methylguanidin-Einstellung gemessen und auf CPM/ml hochgerechnet.

3.5. Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung erfolgte mit einem Computerrechner der Fa. WANG. Programm: t-Test (Student-Test).

4. Ergebnisse

4.1. Verringerung der Postheparin-Diaminooxidase

Bei unseren Untersuchungen verglichen wir die Basalwerte der DAO im Serum bei Normalpersonen (n = 19) und Patienten, die an einer akuten oder chronischen Glomerulonephritis (n = 24), akuter oder chronischer Pyelonephritis (n = 16), nephrotischem Syndrom (n = 2), Lupus Erythematodes (n = 1) und Niereninsuffizienz (n = 2) litten.

Wir untersuchten den Anstieg der DAO-Werte im Serum nach i.v.-Gabe von Heparin (200 IE/kg KG) in Zeitabhängigkeit. Abb. 4 zeigt diese PHD-Werte im Serum von Kontrollpersonen. Man erkennt ein kleines Plateau bzw. einen kurzfristigen Abfall, dem dann ein etwas flacherer Anstieg mit ebenfalls flachem Abfall nach 90 Minuten folgt.

Bei den Nierenerkrankungen fand sich in allen Fällen eine Verringerung der PHD, die zwischen 4 % und 85 % der Kontrollen lag (s. Tab. 1).

Eine Verlaufskontrolle über 5 Monate bei einem histologisch gesicherten nephrotischen Syndrom zeigt Abb. 12. Es handelt sich um fünf verschiedene Kurven in einem Zeitabstand von 4 bis 6 Wochen. Hierbei schwankte die PHD zwischen 68 % und 300 % der Kontrollen.

Generell fand sich bei allen Erkrankungen der Niere keine Beziehung der PHD-Werte zu Harnstoff-Stickstoff, Creatinin oder der Glomerulären Filtrationsrate.

Tabelle 1: PHD (in % der Kontrollen) im Vergleich mit Serum-Harnstoff-N, Serum-Creatinin und Glomerulärer Filtrationsrate bei Nierenerkrankungen

Erläuterungen:

(1) = Patient
(2) = Alter des Patienten in Jahren
(3) = Geschlecht des Patienten
(4) = Diagnose; hierbei bedeuten:

AGN: akute Glomerulonephritis
CGN: chronische Glomerulonephritis
APN: akute Pyelonephritis
CPN: chronische Pyelonephritis
NS: Nephrotisches Syndrom
LE: renaler Lupus Erythematodes
NI: Niereninsuffizienz

(5) = Serum-Harnstoff-N in mg/100 ml
(6) = Serum-Creatinin in mg/100 ml
(7) = Glomeruläre Filtrationsrate (GFR) in ml/min x 1,73 m^2
(8) = PHD in % der Kontrollen

Tabelle 1:

(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)
S. P.	19	m	CGN	52	12,[illegible]	-	[illegible]
S. H.	24	m	CGN	[illegible]	1,0	106	[illegible]
S. R.	16	m	CGN	13	1,0	108	15,1
B. G.	29	m	CGN	-	-	-	14,0
W. A.	36	m	CGN	-	-	-	20,1
A. G.	51	w	CGN	-	-	-	9,55
B. R.	20	w	CGN	32	1,0	90	31,2
F. L.	36	w	CGN	28	4,6	2	4,3
H. B.	23	w	CGN	8	,0	118	31,2
I. M.		m	CGN	19	2,8	80	57,8
K. E.	25	m	CGN	25	2,0	107	85,4
S. H.	34	m	CGN	77	3,2	6,7	19,3
S. H.	44	m	CGN	17	1,0	119	32,2
S. R.	27	w	CGN	11	1,0	101	21,5
F. B.	28	w	AGN	17	1,0	87,5	50
F. M.		w	AGN	18	0,8	77	54,8
H. B.	41	w	AGN	14	0,8	77	42
H. H.	45	m	AGN	32	3,0	49,5	25,2
K. M.	14	w	AGN	20	1,2	92	36
M. R.	21	w	AGN	12	1,0	158	29
R. W.		m	AGN	17	0,8	89,9	23
S. H.	39	w	AGN	11	1,6	-	27,6
S. S.	33	m	AGN	13	1,0	90	35,5
W. W.	35	w	AGN	10	1,0	100	28,2
R. M.		w	AGN	15	1,6	-	46
H. H.	32	m	NI	94	16,8	-	31,2
H. M.	70	w	NI	15	2,8	59,7	48,5
M. O.		m	LE	85	8,4	3,3	16,8
M. M.	36	w	APN	17	1,2	48	85,5
M. M.	39	w	APN	13	1,2	116	52
N. K.	52	w	APN	18	2,0	67	55
R. W.	60	m	APN	40	-	21	12,9
S. C.	32	w	APN	8	1,2	124	14
F. I.	21	w	APN	11	1,0	-	32,5
M. F.	35	m	APN	-	-	-	18,3
V. K.	27	w	APN	-	-	-	16,1
K. R.	65	w	CPN	18	3,0	54	76
F. M.	45	w	CPN	18	1,2	75	33
G. D.	17	w	CPN	12	1,6	91	63,5
B. R.		w	CPN	7,7	2,0	27	13
B. R.		w	CPN	20	2,4	46	18,7
H. R.	16	m	CPN	11	0,8	105	65,5
M. O.	61	m	CPN	-	-	-	8,5
H. R.	19	w	NS	24	1,6	96	300
-"-	-"-	-"-	-"-	16	1,2	96	93,5
-"-	-"-	-"-	-"-	-	-	96	68,8
-"-	-"-	-"-	-"-	14	1,0	96	114,0
-"-	-"-	-"-	-"-	-	1,2	96	145,0
H. W.	52	m	NS	13,2	3,2	11,5	92,4

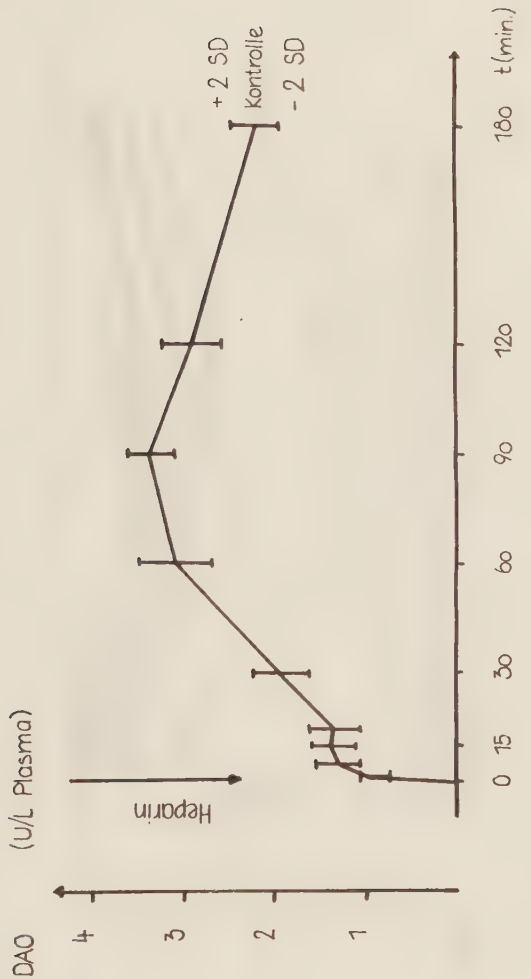

Abbildung 4:
PHD (X = ± 2 SD) der Kontrollgruppe

Abbildung 5:
Postheparin-Diaminooxidase bei akuter Glomerulonephritis (n = 11) in Zeitabhängigkeit nach Heparingabe (200 IE/kg KG i.v.)

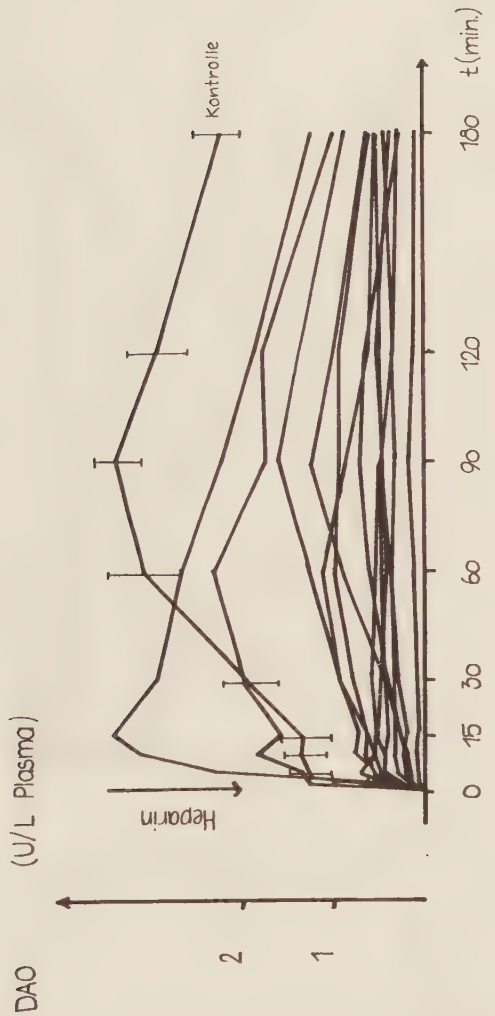

Abbildung 6:
Postheparin-Diaminooxidase bei chronischer Glomerulonephritis (n = 14) in Zeitabhängigkeit nach Heparingabe (200 IE/kg KG i.v.)

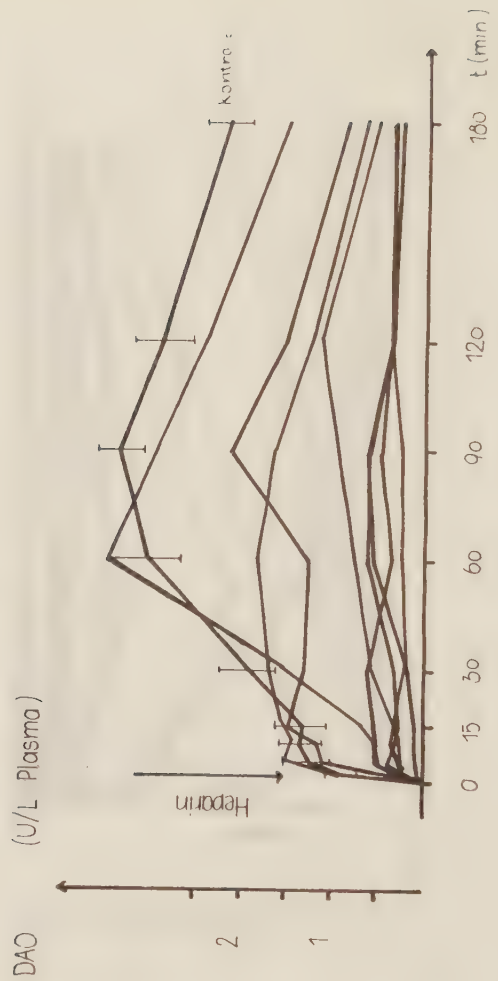

Abbildung 7:
Postheparin-Diaminooxidase bei akuter Pyelonephritis (n = 8) in Zeitabhängigkeit nach Heparingabe (200 IE/kg KG i.v.)

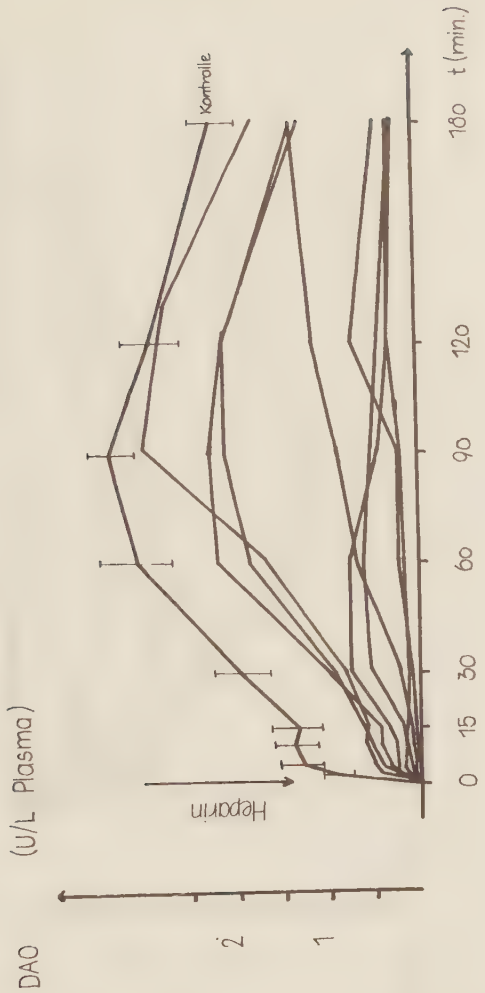

Abbildung 8:
Postheparin-Diaminooxidase bei chronischer Pyelonephritis (n = 8) in Zeitabhängigkeit nach Heparingabe (200 IE/kg KG i.v.)

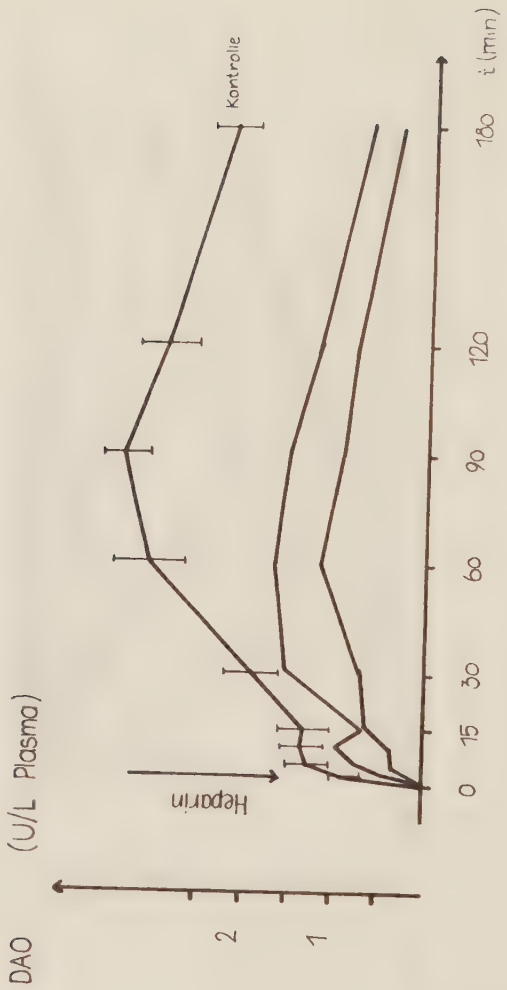

Abbildung 9:
Postheparin-Diaminooxidase bei Niereninsuffizienz (n = 2) in Zeitabhängigkeit nach Heparingabe (200 IE/kg KG i.v.)

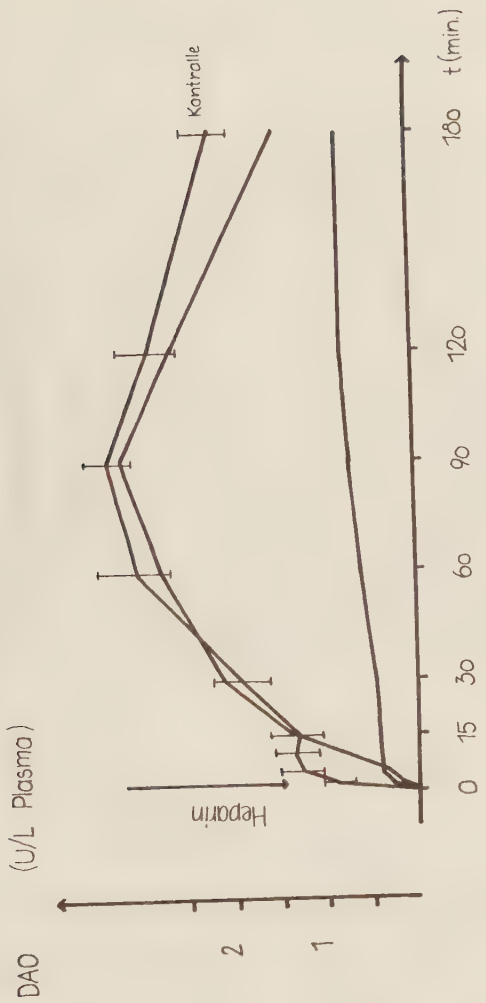

Abbildung 10:
Postheparin-Diaminooxidase bei renalem Lupus Erythematodes (n = 1) und nephrotischem Syndrom (n = 1) in Zeitabhängigkeit nach Heparingabe (200 IE/kg KG i.v.)

Abbildung 11:

Postheparin-Diaminooxidase im Verlauf von 5 Monaten bei einem histologisch gesicherten nephrotischen Syndrom

4.2. Hemmung der Diaminooxidase in vitro durch Urämietoxine

Aminoguanidin ist seit Jahren als DAO-Hemmsubstanz mit einem K_i-Wert von 5×10^{-8} M bekannt (43). Um den Pathomechanismus des PHD-Abfalls bei Nierenerkrankungen klären zu können, mußte der Einfluß von harnpflichtigen Substanzen und den sog. Urämietoxinen auf die DAO untersucht werden. Urämietoxine sind Guanidinabkömmlinge, die chemisch mit dem Aminoguanidin verwandt sind.

Guanidinacetat zeigte bei 5×10^{-5} M eine Enzymhemmung von 30 %, wohingegen Methylguanidin bei gleicher Konzentration eine Hemmung von 50 % zeigte. Harnstoff und Creatinin waren ohne Einfluß auf das Enzym (s. Tab. 2). Wegen der Hemmung der PHD durch Methylguanidin in Konzentrationen, die unter Bedingung der Urämie beobachtet werden, wurde die Hemmung der PHD und der Hemmtyp durch diese Substanz nach DIXON (10) bestimmt. Abb. 3 zeigt die graphische Bestimmung des K_i-Wertes für Methylguanidin bei $0{,}5 \times 10^{-4}$ M sowie den nicht-kompetitiven Hemmtyp.

Tabelle 2: Hemmung der DAO durch Urämietoxine

Inhibitor	Endkonzentration	Enzymaktivität in mU/ml	Enzymhemmung in %
ohne		1,00	
Aminoguanidin	5×10^{-5} M	0,06	93
Harnstoff	10^{-2} M	0,97	0
Creatinin	5×10^{-5} M	1,06	0
Methylguanidin	5×10^{-5} M	0,50	50
Guanidinsuccinat	5×10^{-5} M	0,90	10
Guanidinacetat	5×10^{-5} M	0,73	27

4.3. ^{3}H-Methylguanidinkonzentration in Organen

Abb. 12 zeigt die Konzentration von ^{3}H-Methylguanidin in der Leber, der Niere, der Milz und der Skelettmuskulatur bei Ratten (n = 25) im Vergleich zu einem Plasmaspiegel nach einer intravenösen Injektion von 10 µmol/kg. In allen Organen, die untersucht wurden, wurden sogar 60 Minuten nach der Injektion höhere Werte von Methylguanidin als im Plasma gefunden.

4.4. Vergleich der PHD mit dem C-Reaktiven Protein im Serum

Bei den 45 Patienten wurde der Entzündungsparameter CRP gegen die PHD (90-Minuten-Wert) aufgetragen. Die Normalwerte des CRP liegen zwischen 0,5 und 1,0 mg/100 ml. Alle erhöhten CRP-Werte waren mit einer verringerten PHD verbunden. Zusätzlich wurde bei einer beträchtlichen Zahl von Patienten mit normalen CRP-Werten ein zum Teil erheblicher Abfall der PHD gefunden (s. Abb. 13).

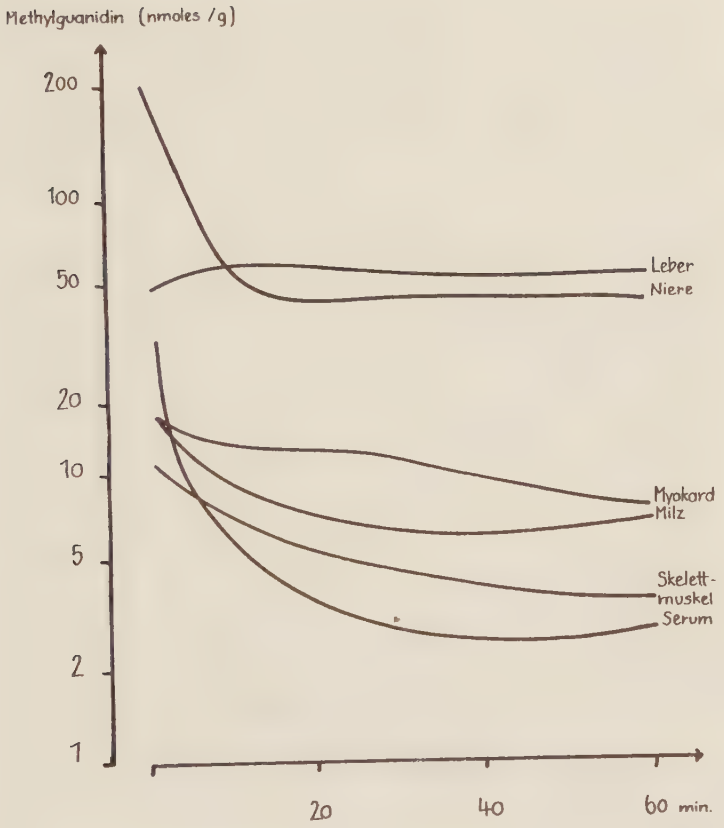

Abbildung 12:
Vergleich der ^{3}H-Methylguanidinkonzentration in verschiedenen Geweben der Ratte (n = 25) mit dem Serumspiegel nach Gabe von 10 µMol/kg i.v. von ^{3}H- Methylguanidin

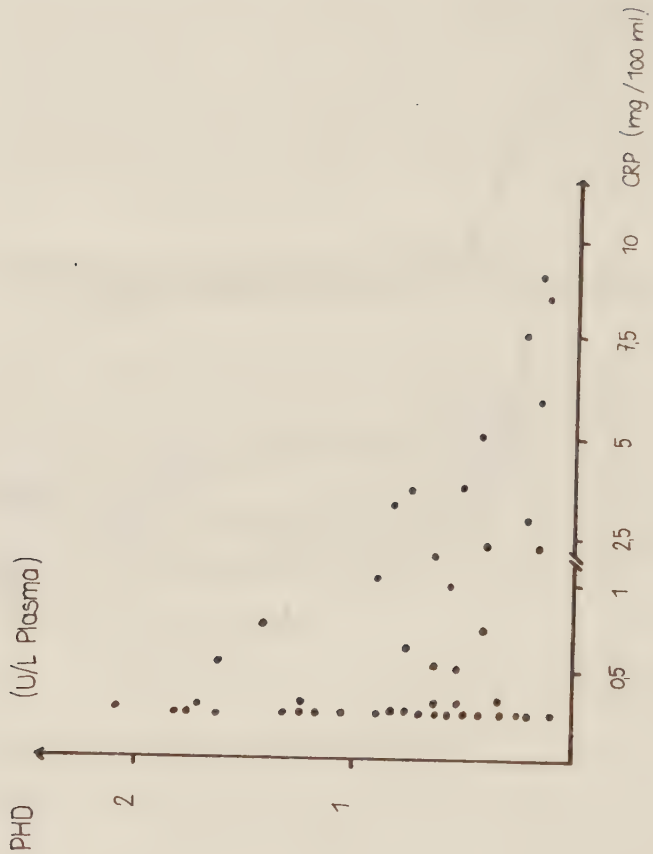

Abbildung 13:
Vergleich der PHD mit dem CRP bei Nierenerkrankungen

5. Diskussion

Die in dieser Arbeit vorgelegten Ergebnisse zeigen, daß bei Nierenerkrankungen verschiedenen Ursprungs der Postheparin-DAO-Spiegel verändert ist. Diese Veränderungen sind teils nur geringen Ausmaßes, zum Teil werden jedoch Enzymveränderungen gefunden, die bei etwa 4 % der Kontrollen lagen.

Die ersten Untersuchungen über die DAO fand man im Zusammenhang mit dem allergischen Asthma (18) und bei einigen neoplastischen Erkrankungen (2), so beim kleinzelligen Bronchialcarcinom und dem medullären Schilddrüsencarcinom. Der erste Abfall der Enzymaktivität im Plasma wurde bei der akuten Hepatitis beschrieben (11). Dieser Befund konnte in dieser Arbeit bei Nierenerkrankungen verschiedener Genese ebenfalls festgestellt werden. Dazu steht die Arbeit von GUHA (17) jedoch im Widerspruch, er hatte bei akuten Hepatitiden einen erhöhten DAO-Spiegel gefunden; ebenso die Arbeit von HANSSON et al. (20), die während der Hämodialyse einen erhöhten DAO-Spiegel gefunden hatten. In unseren Ergebnissen wäre dies mit der Verlaufskontrolle der Patientin mit nephrotischem Syndrom zu vergleichen; hierbei fand sich in einem Stadium sogar eine Erhöhung der DAO bis 300 % der Kontrollen. Schwedische Autoren (19) interpretieren dieses Phänomen als eine Eliminierungsstörung der Leber. Bei der vorliegenden Krankengeschichte lag keine Erkrankung dieses Organs vor, wir glauben deshalb eher an eine gesteigerte Freisetzbarkeit aus den Zellen, wobei auch die Freisetzung des Enzyms durch endogenes Heparin möglicherweise erhöht ist. Gegen die Vermutung, daß die erhöhten endogenen DAO-Plasma-Spiegel durch Eliminierungsstörungen der Leber verursacht werden, spricht auch der Enzymabfall im Plasma nach Heparingabe. Dieser Abfall pro Zeiteinheit entspricht dem der Kontrollpersonen.

Um eine Aussage über die gesamte vorhandene Enzymkapazität in Leber und Dünndarm, sowie in Niere und Milz bei Nierenerkrankungen machen zu können, führten wir eine intravenöse Heparinbelastung mit 200 IE/kg Körpergewicht durch. Der Hinweis dazu kam aus der Literatur von PALM (39), der diesen Vorgang als eine "indirekte Organbiopsie" bezeichnete. Aus den Untersuchungen von TRYDING und WILLERT (45) war bekannt, daß man nach Heparingabe einen zweigipfligen Kurvenverlauf erhält, wobei das erste Maximum überwiegend der DAO-Freisetzung aus der Leber, das zweite hingegen der DAO-Freisetzung aus dem Dünndarm entspricht. Dieses Ergebnis war von schwedischen Autoren durch die Ligatur des Ductus Thoracicus am Angulus venosus gewonnen worden, dabei wurde das Einströmen des Dünndarmenzyms mit dem Chylus in die Zirkulation verhindert. Bis etwa 10 bis 15 Minuten nach Heparingabe scheint das Leberenzym zu überwiegen.

Unsere Beobachtungen über die PHD bei Nierenerkrankungen zeigen, daß in allen Fällen die Leber-DAO und die Dünndarm-DAO eindeutig verringert sind.

Als nächstes soll eine Denkmöglichkeit gegeben werden, die die gleichzeitige DAO-Verarmung von Leber und Dünndarm bei entzündlichen Nierenerkrankungen verständlich machen könnte:

Die Zusammenhänge zwischen Heparin, Histamin und DAO liegen auf zellulärer Ebene. Innerhalb der Mastzellen und basophilen Leukozyten ist das basische Histamin in Form einer lockeren, salzartigen Bindung an das saure Heparin gebunden. Dieser Komplex bildet einen Bestandteil der basophilen Granulozyten. Während der Anaphylaxie, aber auch bei anaphylaktoiden Reaktionen, kommt es zu einer Degranulation der Mastzellen mit einer nachfolgenden Freisetzung von Histamin und Heparin (s. Abb. 14). Beim ana-

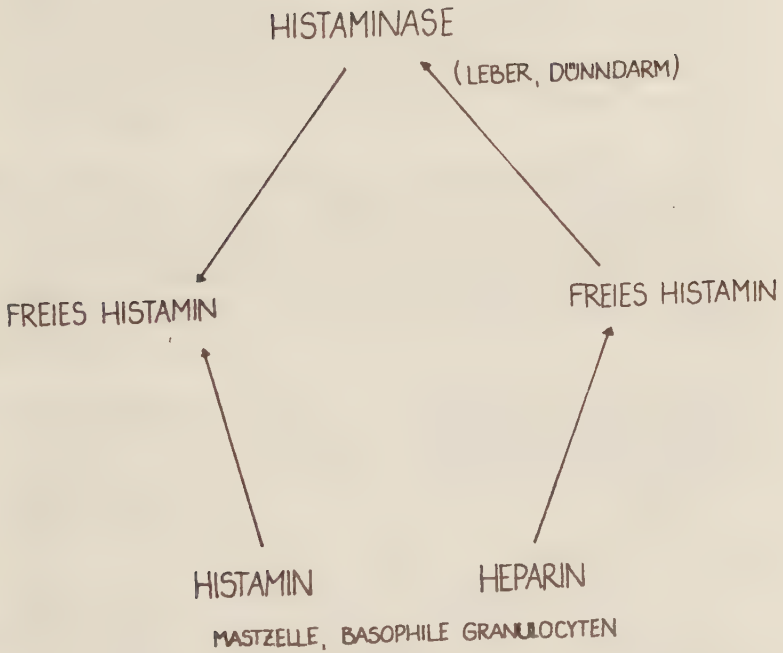

Abbildung 14:
Aktivierung der Diaminooxidase (Histaminase) durch Heparin der Mastzelle (Denkmodell)

phylaktischen Schock des Meerschweinchens konnten GIERTZ und HAHN (3, 15) zeigen, daß eine DAO-Freisetzung aus der Leber erfolgte, die mit einer Enzymverarmung der Leber einherging. Diese wurde durch begleitende Heparinämie erklärt. Analog kann man deshalb vermuten, daß während einer Entzündung die Freisetzung von endogenem Heparin ebenfalls zu einer Verarmung der DAO-haltigen Organe führt.

Erhöhte DAO-Serumspiegel sind beim Asthma bronchiale, beim Herzinfarkt (31) sowie bei Hämodialyse-Patienten (20) nachgewiesen worden, und auch bei tierexperimentellen Untersuchungen ist eine Erhöhung der Plasmahistaminase (DAO) bei verschiedenen Entzündungsformen, z. B. bei Verbrennungen (31) oder Terpentinintoxikationen (5), bekannt.

Diese Befunde könnten über die Heparinfreisetzung bei der Entzündung erklärt werden und würden die entsprechende Organverarmung verständlich machen. Dies würde auch die Verringerung des PHD-Spiegels bei akuten und chronischen Glomerulonephritiden, akuten und chronischen Pyelonephritiden, bei Niereninsuffizienz, nephrotischem Syndrom und renalem Lupus Erythematodes erklären, die auf eine Verarmung der Organe an Histamin hinweist. Die PHD-Verminderung korreliert mit dem Entzündungsparameter CRP und stellt damit einen empfindlichen Entzündungsparameter dar.

Die Frage ist nun, inwieweit die PHD eine Bedeutung für den Histaminabbau hat. SCHAYER (41, 42) fand, daß 60 % des Histamins über die N-Methyltransferase und 40 % über die DAO metabolisiert werden. Dies bedeutet, daß die DAO der N-Methyltransferase nachgeordnet ist. Bei der Untersuchung wurden nach intracutaner Histamingabe die Metaboliten im Urin von gesunden Kontrollpersonen bestimmt. Die alleinige Gabe von Histamin simuliert nicht die Vorgänge einer Entzündung, bei der es neben Histaminfreisetzung aus den Mastzellen zu einer Heparinämie kommt, die

wiederum zu einem Anstieg der DAO führt.

Im Bezug auf Nierenerkrankungen wird der DAO-Anstieg auch durch sog. Urämietoxine beeinflußt. Die DAO-Freisetzung wird durch Aminoguanidin gehemmt (43); später fand man auch Hydrazin und Furoxon als Hemmsubstanzen heraus (14, 39), wobei man beim Furoxon eine Hemmung der DAO in Leber und Dünndarm annahm.

Unsere Versuche mit Methylguanidin zeigten einen K_i-Wert von 5×10^{-5} M, was den Werten der Serumkonzentrationen bei der Urämie entspricht (16). Andererseits muß man vermuten, daß beim Menschen - wie es bei Ratten nach Methylguanidinbelastung gezeigt wurde - dieser Stoff akkumulieren könnte und somit die Enzymaktivität noch mehr vermindern könnte. Da es schwierig ist, Methylguanidin im Plasma zu bestimmen, konnten wir die Enzymaktivität nur mit der glomerulären Filtrationsrate, dem Harnstoff-N und dem Creatinin im Serum vergleichen, wobei wir keine Korrelation beobachteten.

Seit einigen Jahren ist die DAO als Vitamin-B_6-abhängiges Enzym bekannt (26). Vitamin B_6 zirkuliert im Plasma hauptsächlich in seiner phosphorylierten Form (1) als Pyridoxalphosphat (PLP). Bei experimentellem Vitamin-B_6-Mangel ist ein beträchtlicher Mangel an PLP-abhängigen Apoenzymen bekannt, wie z. B. Transaminasen und Decarboxylasen. In der Vergangenheit konnte gezeigt werden, daß Pyridoxalphosphat die PLP-abhängigen Enzyme vor spezifischen Proteasen schützen und so Enzym-Aktivitäten regulieren kann (26). Mangel und Anreicherung von Pyridoxalphosphat brauchen nicht der alleinige Grund für eine Verminderung des DAO-Plasma-Spiegels bei Nierenerkrankungen zu sein.

Bei mit Methylguanidin intoxikierten Hunden fanden sich

klinische Symptome wie Blutungen und Ulcera der Magen-Darm-Schleimhaut. Beim Menschen wurde die Basalsekretion durch Heparingabe vermindert (21). Aminoguanidin hob die Wirkung des Heparins auf die Basalsekretion der Magenschleimhaut wieder auf. Deshalb kann angenommen werden, daß bei Nierenerkrankungen der verringerte DAO-Organspiegel einer der Gründe eines gestörten Histamin-Metabolismus ist. Das würde teilweise einige der klinischen Symptome erklären, die im wesentlichen den Gastro-Intestinal-Trakt betreffen.

6. Zusammenfassung

Die Aktivität der Plasma-DAO wurde bei Patienten mit entzündlichen Nierenerkrankungen verschiedener Genese gemessen. Nach Applikation von Heparin war die Enzymfreisetzung in das Plasma im Vergleich zu einer Gruppe Gesunder jedoch sichtlich vermindert.

Es bestand eine inverse Korrelation zwischen dem Anstieg des CRP und dem Abfall des Postheparinenzyms.

Der Abfall des Enzyms betrug bis zu 4 % der Kontrollen; im Verlauf der Erkrankung kam es dann zu einer Normalisierung des Enzymverhaltens.

Methylguanidin zeigte sich als ein empfindlicher, nichtkompetitiver Hemmstoff der DAO in vitro ($K_i = 5 \times 10^{-5}$ M).

Untersuchungen der Verteilung mit titriertem Methylguanidin bei Ratten zeigten in allen Organen eine höhere Konzentration als im Plasma. Es wird vermutet, daß die Organkonzentrationen von Methylguanidin bei Urämie den gefundenen K_i-Werten entspricht.

Dies trifft auch für Urämietoxine wie Aminoguanidin, Guanidinacetat und Guanidinsuccinat zu, aber in geringerem Maße.

Der Plasmaspiegel von Pyridoxalphosphat (PLP), dem Coenzym der DAO, verringert sich bei Patienten mit Nierenversagen. Die Verminderung der DAO-Abgabe nach Heparinreizung bei chronischem Nierenversagen kann deshalb durch eine Hemmung des Enzyms als auch durch einen verminderten Coenzymgehalt erklärt werden.

Es wird vermutet, daß dem Heparin der Mastzellen durch

die Aktivierung der DAO eine histaminabbauende Funktion im Rahmen der Entzündung zukommt.

7. Literaturverzeichnis

1. Baker, H., Frank, O.:
Clinical vitaminology. Methods and interpretation.
New York, Interscience 1968, 66

2. Baylin, S. B., Beaven, M. A., Keiser, H. R., Tashjian, A. H., Melvin, K. E. W.:
Serum histaminase and calcitonin levels in medullary carcinoma of the thyroid.
Lancet 1, 455 (1972)

3. Bernauer, W., Giertz, H., Hahn, F., Schmutzler, W., Seseke, G., Sievers, B. U.:
Zum Mechanismus der Histaminaseaktivierung im anaphylaktischen Schock.
Naturwissenschaften, 34, 412 (1964)

4. Best, zit. Richter, H.:
Diaminoxydase im Dünndarm von Mensch, Hund und Kaninchen: Frage einer protektiven Rolle bei akuter intestinaler Ischämie.
Habilitationsschrift, Marburg, S. 28 (1974)

5. Bieganski, T., Maslinski, C.:
The histaminase activity of guinea-pig's plasma during experimental inflammation. Some properties of the enzyme.
Agents and Actions, 4, 69 (1974)

6. Brandau, H.:
Untersuchung der Schwangerschaft (Endokrinologische und enzymologische Überwachung).
Med. Klin. 69, 1519 (1974)

7. Chassan, A. L., Grady, H. J., Stanley, M. A.:
Am. J. Clin. Path., 35, 83 (1961)

8. Cotzias, G. C., Dole, V. P.:
The activity of histaminase in tissues.
J. Biol. Chem., 196, 235 (1952)

9. Danforth, D. N., Borham, F.:
Placental histaminase.
Amer. J. Physiol. 119, 294 (1937)

10. Dixon, M.:
The determination of enzyme inhibitor constants.
Biochem. J. 55, 170 (1953)

11. Geller, L. I., Kozlova, Z. P.:
Nekotoryje pokazateli obmiena gistamina pri bolezniach pieczeni.
Vop. med. Khim. 16, 366 (1970)

12. Gessler, R. M., Matsuba, M., Dragstedt, C. A.:
Observations on the histaminolytic activity of dog thoracic duct lymph.
J. Pharmacol. exp. Therap. 116, 356 (1956)

13. Gessler, U.:
Urämie.
Aesopus-Verlag (1977)

14. Gey, K. F., Burkard, W. P., Pletscher, A.:
Hemmung der Diaminooxidase in vivo durch Hydrazinderivate.
Helv. Physiol. Acta 18, 27 (1960)

15. Giertz, H., Hahn, F., Hahn, H., Schmutzler, W.:
Über den Plasmahistamingehalt bei der Meerschweinchenanaphylaxie.
Klin. Wschr. 40, 598 (1962)

16. Giovannetti, S., Balestri, P. L., Barsotti, G.:
Methylguanidine in uremia.
Arch. Intern. Med. 131, 709 (1973)

17. Guha, T., Chakravarti, H. S., Basu, A., Bannerjee, S., Lahiri, S. C.:
Histaminase level changes in liver damage.
Res. Comm. Chem. Path. Pharmacol. 5, 843 (1973)

18. Guha, T., Chakravarti, H. S., Basu, A., Lahiri, S. C.:
Plasma histaminase levels in status asthmaticus.
Bull. Cal. School Trop. Med. 18, 37 (1970)

19. Hansson, R.:
Heparin-induced increase of diamine oxidase (histaminase) in blood and lymph.
Scand. J. Clin. Lab. Inverst. 31, Suppl. 129 (1973)

20. Hansson, R., Holmberg, C. G., Tibbling, G., Tryding, N., Westling, H., Wetterquist, H.:
Heparin-induced diamine oxidase increase in human blood plasma.
Acta med. Scand. 180, 533 (1966)

21. Hansson, R., Sundström, G.:
Diamine oxidase (histaminase) and heparin inhibition of gastric secretion in man.
Scand. J. Clin. Lab. Invest. 26, 263 (1970)

22. Hudson, H., Rapoport, A.:
Clin. Chem. 14, 222 - 238 (1968)

23. Jaffa, M.:
Hoppe-Seyler's Zeitschrift für Physiologische Chemie, 10, 399 (1886)

24. Kapeller-Adler, R.:
Amine oxidase and methods for their study.
Whiley-Interscience (1970), New York

25. Kapeller-Adler, R.:
The effect of sex hormones on histaminase.
Ciba Found. Symp. 272 (1956)

26. Kapeller-Adler, R., MacFarlane, H.:
Purification and identification of dog kidney histaminase.
Biochem. Biophys. Acta 67, 542 (1963)

27. Kusche, J., Richter, H., Schmidt, J., Hesterberg, R., Lorenz, W.:
Intestinal diamine oxidase. Isolation, substrate specifity and pathophysiological significance.
Agents and Actions 3, 183 (1973)

28. Kobayashi, Y., Ivy, A. C.:
Histamine metabolizing activity of the stomach and intestine of the rat.
Amer. J. Physiol. 196, 835 (1959)

29. Kobayashi, Y., Ivy, A. C.:
Histamine metabolizing activity of dog stomach and intestine.
Amer. J. Physiol. 195, 525 (1958)

30. Kobayashi, Y., Maudsley, P. V.:
Release of diamine oxidase by heparin in the rat.
Biochem. Pharmacol. 18, 1585 (1969)

31. Lahiri, S. C., Basu, A., Banerjee, S.:
Changes in histaminase content following experimental thermal injury.
Biochem. Pharmacol. 20, 3225 (1971)

32. Lindell, S. E.:
Effects of histaminase inhibitors on the blood pressure responses in dogs to histamine injected into the renal artery.
Acta Physiol. Scand. 41, 168 (1957)

33. Lorenz, W., Doenicke, A., Freund, M., Schmal, A., Dorman, P., Praetorius, B., Schürk-Bulich, M.:
Plasmahistaminspiegel beim Menschen nach rascher Infusion von Hydroxyäthylstärke: Ein Beitrag zur Frage allergischer oder anaphylaktoider Reaktionen nach Gabe eines neuen Plasmasubstituts.
Anästhesist, 24, 228 (1975)

34. Lorenz, W., Thermann, M., Hamelmann, H., Schmal, A., Maroske, D., Reimann, H. J., Kusche, J., Schingale, F., Dormann, P., Keck, P.:
Influence of H_1- and H_2-receptor antagonists on the effects of histamine in the circulatory system and on plasma histamine levels. Int. Symp. on Histamine H_2-Receptor Antagonists (C. J. Wood, M. A. Simkins (eds)), Deltakos (UK), London, p. 151, 1973 a

35. Mancini, G., Carbonara, A. O., Heremans, J. F.:
Immunochemical quantitations of antigens by single radial immunodiffusion.
Immunochemistry 2, 235 (1965)

36. Mars, W. H., Fingerhut, H. B., Miller, H.:
Clin. Chem. XI, 624 - 627 (1965)

37. Mondovi, B., Rotilio, G., Finazzi, A., Scioscia-Santoro, A.:
Purification of pig-kidney diamine oxidase and its identity with histaminase.
Biochem. J. 91, 408 (1967)

38. Okuyama, T., Kobayashi, Y.:
Determination of diamine oxidase activity by liquid scintillation counting.
Arch. Biochem. 95, 242 (1961)

39. Palm, D., Magnus, U.:
Hemmung der Monoaminooxidase und der Diamino-oxidase durch Furazolidin (Furoxon).
Klin. Wschr. 46, 720 (1968)

40. Seelig, H. P.:
Zeitschr. f. Klin. Chem. und Klin. Biochem. 7, 581 - 585 (1969)

41. Schayer, R. W.:
Catabolism of histamine in vivo.
Handbook of experimental pharmacology 18, 672 (1966)

42. Schayer, R. W.:
Catabolism of physiological quantities of histamine in vivo.
Physiol. Rev. 39, 116 (1959)

43. Schuler, W.:
Zur Hemmung der Diaminoxydase (Histaminase).
Experientia 8, 230 (1952)

44. Shore, P. A., Cohn, V. H.:
Comparative effects of monoamine oxidase inhibitors of monoamine oxidase and diamine oxidase.
Biochem. Pharmacol. 5, 91 (1960)

45. Tryding, N., Willert, B.:
Determination of plasma diamine oxidase (histaminase) in clinical practice.
Scand. J. Clin. Lab. Inverst. 22, 29 (1968)

46. Waton, N. G.:
Studies on mammalian histidindecarboxylase.
Brit. J. Pharmacol. 11, 119 (1956)

47. Werle, E.:
Über das Vorkommen von Diaminooxidase und Histidindecarboxylase in Mikroorganismen.
Biochem. Z. 309, 61 (1941)

48. Zeller, A. E.:
Diamine oxidases.
The enzymes 2nd ed 8, 313 (1963)

49. Zeller, A. E.:
Oxidation of amines.
Academic Press. Inc. New York, 1, 536 (1951)

50. Zeller, A. E.:
Über den enzymatischen Abbau von Histamin und Diaminen.
Helv. chim. Acta 21, 880 (1938)

51. Zeller, A. E., Fouts, J. R., Carbon, J. A., Lazonas, J. C., Voegtli, W.:
Über die Substratspezifität der Diaminooxidase.
Helv. chim. Acta 39, 1632 (1956)

L E B E N S L A U F

Name:	Lindner Hildgund Anneliese Hedwig
Mädchenname:	Berneburg
Geboren:	15. 6. 1950 in Mittenwalde
Heirat:	6. 12. 1979
Eltern:	Dr. med. Hans-Jobst Berneburg, Lungenfacharzt Anneliese Berneburg, geb. Röhn Medizinisch-technische Assistentin
Volksschule:	1. bis 4. Klasse (1957 - 61) in Mosbach
Gymnasium:	Sexta bis Oberprima (1961 - 69) im Hohen-Staufen-Gymnasium, Eberbach; Reifeprüfung am 25. 6. 1969
Hochschule:	Julius-Maximilians-Universität, Würzburg Studienfächer: Psychologie (1969 - 73) Medizin (1971 - 77) Abgelegte Prüfungen: Naturwissenschaftl. Vorprüfung (20. 3. 72) Vorprüfung für Psychologen (4. 4. 1973) Ärztliche Vorprüfung (9. 10. 1973) Ärztliche Prüfung (25. 7. 1977)
Medizinal-assistentenzeit:	Stiftsklinik Augustinum, Bad Windsheim: Innere Medizin: 1. 2. 1978 - 31. 7. 1978 Chirurgie: 1. 8. 1978 - 31. 10. 1978 und 1. 1. 1979 - 31. 1. 1979 Anästhesie: 1. 11. 1978 - 31. 12. 1978
Approbation:	5. Februar 1979
Tätigkeit als Assistenzarzt:	Stiftsklinik Augustinum, Bad Windsheim: Anästhesie: 1. 2. 1979 - 30. 6. 1979 Universitätskliniken Würzburg: Anästhesie: seit 1. 7. 1979

Hildgund Lindner